

Compuestos de origen marino como instrumentos para el estudio del sistema nervioso

Compounds from marine sources as tools to study the nervous system

Anoland Garateix¹, Teidy Garcia¹, Emilio Salceda² y Enrique Soto²

¹Departamento de Bioactivos y Productos Naturales Marinos, Instituto de Oceanología, CITMA. Loma y 37. Alturas del Vedado. La Habana, Cuba

²Instituto de Fisiología, Universidad Autónoma de Puebla, México

Resumen

Las toxinas marinas han proporcionado una variedad de compuestos capaces de ejercer acciones específicas y potentes a nivel de canales iónicos activados por voltaje o por neurotransmisores. Puesto que los canales iónicos participan en los mecanismos básicos de funcionamiento del sistema nervioso y que alteraciones funcionales y estructurales asociadas a éstos pueden correlacionarse con diferentes patologías neurológicas, neuromusculares y cardiovasculares, las toxinas pueden jugar un papel muy importante tanto como reactivos biológicos para la investigación biomédica, como para el diseño de nuevos fármacos a emplear en la terapéutica médica.

Abstract

Marine toxins represent a significant source of compounds capable to act potently and specifically at the level of voltage gated and neurotransmitter gated ionic channels. Ionic channels participate in basic mechanisms that underlie the function of the nervous system, and functional as well as structural changes associated with these proteins could be related with different neurological, neuromuscular and cardiovascular pathologies. Therefore, toxins could play an important role as biological reagents for biomedical research and as a source for the design of new drugs to be used in medical therapy.

Palabras clave: toxinas marinas, canales iónicos, canalopatías.

Key words: marine toxins, ionic channels, channelopathies

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevos medicamentos y de estructuras moleculares novedosas con fines terapéuticos se ha incrementado considerablemente en los últimos años. La existencia de enfermedades para las cuales no existen medicamentos efectivos, la resistencia de los agentes patógenos y los avances en las técnicas de biología molecular han propiciado la identificación de un número cada vez mayor de moléculas "blanco". La correlación de anomalías estructurales y funcionales a nivel de receptores y canales iónicos con diferentes patologías, es uno de los factores que han promovido el interés en encontrar nuevas sustancias capaces de ejercer acciones terapéuticas específicas y potentes.

CANALOPATIAS

A partir de la serie de trabajos de Hodgkin y Huxley, en el año 1952, acerca de los mecanismos que subyacen a la generación del potencial de acción, el estudio de los canales iónicos se ha desarrollado desde su descripción funcional y biofísica, al estudio de su estructura molecular y, finalmente, al análisis de su participación en diversos procesos patológicos. En todos estos campos las toxinas han sido utilizadas como instrumentos de investigación. Por ejemplo, el descubrimiento de la acción altamente selectiva de la tetrodotoxina (TTX) por el grupo de Narahashi, en los años sesenta (MOORE & NARAHASHI, 1967), y la determinación y síntesis de la estructura de la molécula de la TTX y de sus derivados (que le valieron el premio Nobel de Química en 1965 a Robert Burns Woodward), sentó las bases para el estudio de los canales de sodio. De hecho, la unión de la TTX al canal de sodio es tan firme y de tan alta selectividad que permitió, por un lado, el desarrollo de métodos de purificación de estas moléculas mediante el uso de columnas de afinidad con TTX y, por otro, el desarrollo de experimentos en que la corriente de sodio puede ser eliminada selectivamente. Otras toxinas como las conotoxinas, la dendrotoxina, la caribdotoxina, la apamina, han contribuido también a definir las propiedades biofísicas y el papel funcional de diversos subtipos de canales iónicos en diferentes tejidos.

El desarrollo de la biología y de la genética molecular han permitido la identificación de las secuencias de aminoácidos de las subunidades que conforman los canales iónicos, la definición de los genes que codifican para estas proteínas, así como la identificación de las mutaciones que producen alteraciones significativas en su funcionamiento. En este sentido, la existencia de modelos animales mutantes con alteraciones en la cinética de los canales ha jugado un papel predominante. Por ejemplo, el descubrimiento de un mutante de moscas con temblores espontáneos ("Shaker") permitió la identificación de los genes que codifican para algunas subunidades de los canales de potasio, iniciándose así el estudio sistemático de las alteraciones genéticas que conllevan cambios funcionales en los canales iónicos. Estos estudios han dado origen al término canalopatías, que abarca un amplio rango de padecimientos con alteraciones hereditarias en el funcionamiento o expresión genética de canales iónicos.

Entre las canalopatías están diversos padecimientos de interés en varios campos de la medicina como la neurología, la nefrología, la miología y la cardiología. Ejemplos de alteraciones neurológicas son las convulsiones neonatales benignas debidas a mutaciones en los canales de potasio (ROGWASKY, 2000; THARP, 2002), la ataxia episódica producida por una mutación en los canales de potasio análogos a los "Shaker" del tipo KCNA1 o en los canales de calcio neuronales tipo P/Q, la migraña hemipléjica debida comúnmente a alteraciones en la expresión de la subunidad α de los canales de calcio neuronales de los subtipos P/Q (PIETROBON, 2002), la sordera congénita tipo DFNA2 debida también a alteraciones en la expresión de las subunidades (KCNQ4 y KCNQ1) que componen los canales de potasio. En nefrología, encontramos la nefrolitiasis recesiva ligada al cromosoma X debida a alteraciones en los canales de cloro (CLC-5). En miología, las parálisis periódicas hipokalémica e hiperkalémica debidas ya sea a alteraciones en canales de calcio tipo L (5 mutaciones identificadas), en el receptor de ryanodina (19 mutaciones identificadas), o en los canales de potasio o de sodio (RUGGIERI & ARBERAS, 2002); destaca asi-

mismo la miotonía congénita para la cual se han identificado 44 tipos de mutaciones en los canales de cloro tipo CLCN-1 o en los canales de sodio del músculo, la paramiotonía que se acompaña de alteraciones en los canales de sodio sensibles a TTX (SCN4A) del músculo esquelético, la hipertermia maligna debida a mutaciones en el receptor de ryanodina o en los canales de calcio sensibles a las dihidropiridinas (tipo L) que participan en el proceso de acoplamiento excitación-contracción (LEHAMN-HORN, JURKAT-ROTT & RUDDEL, 2002). En cardiología destaca el síndrome Q-T largo que se asocia frecuentemente a alteraciones auditivas (síndromes de Jervell y Lange-Nielsen) y que puede producir muerte súbita. Estos síndromes pueden producirse a consecuencia de mutaciones en varios subtipos de canales de potasio (MinK, KCNQ1 y HERG) o en canales de sodio (SCN5A), todos los cuales participan en la repolarización cardiaca (ROGWASKY, 2000; MARVAN, 2002); para una revisión ver (LEHAMN-HORN & JURKAT-ROTT, 1999). Es importante tener en consideración que, en las canalopatías, puede haber convergencia fenotípica, esto es, que un mismo padecimiento puede producirse por mutaciones en diferentes canales iónicos, o divergencia fenotípica lo que implica que mutaciones en un mismo subtipo de canal iónico pueden originar diversos padecimientos, como sucede en el caso de los canales de calcio neuronales en que mutaciones de un mismo gene se asocian con la migraña episódica familiar, ataxia progresiva o epilepsia (KULLMANN, 2002).

Los anteriores son tan sólo algunos ejemplos de patologías médicas cuya base fisiopatológica se encuentra en alteraciones en la expresión genética de subunidades de canales iónicos sensibles a voltaje. Cabe destacar que existen diversos modelos animales de estos padecimientos, y que las toxinas constituyen una buena herramienta que puede permitir reproducir los cambios en la cinética de canales iónicos que se presentan en algunas de estas mutaciones y, consecuentemente, estudiar los cambios funcionales secundarios contribuyendo así al conocimiento de la fisiopatología de estos padecimientos.

A lo anterior debe añadirse que investigaciones de los mecanismos biofísicos y moleculares acerca del aprendizaje y del almacenamiento de memoria han identificado un número de elementos claves que están filogenéticamente conservados tanto en vertebrados como en invertebrados, como son los canales de potasio, las proteínas cinasas, la regulación del calcio intracelular, las características de los receptores tipo N metil D aspártico (NMDA) y los receptores a acetilcolina, etcétera. La pérdida de memoria es el marcador y quizás el signo inicial de la enfermedad de Alzheimer, y de hecho algunos de los elementos arriba mencionados se han encontrado alterados en pacientes con esta patología (ETCHEBERRIGARAY, GIBSON & ALKON, 1994, NEWHOUSE, 1997)

En el infarto cerebral, en algunas enfermedades neurodegenerativas y en la demencia asociada al SIDA se ha observado que se produce una estimulación excesiva del complejo receptor-canal tipo NMDA, lo que produce un aumento en los niveles de calcio intracelular y la consiguiente producción de radicales libres seguida de daño neuronal. Con el desarrollo de antagonistas al receptor tipo NMDA se abre una posibilidad para la intervención terapéutica en estos casos (LIPTON, 1996).

Se plantea que el alcoholismo y la esquizofrenia pueden considerarse parte de los desórdenes neurológicos asociados a la neurotransmisión glutamatérgica anómala, especialmente a través de receptores NMDA (TSAI, 1995, TAMMINGA, 1998). Estos receptores están implicados en diferentes tipos de plasticidad neural y conductual (TRUJILLO, 1995).

Por otra parte, los canales de sodio dependientes de voltaje son los blancos moleculares de los anestésicos locales, de las drogas antiarrítmicas clase I y de muchos anticonvulsivantes (RAGSDALE, MCPHEE, SCHEUER & CATTERALL, 1996; TAYLOR & NARASIMHAN, 1997).

NUEVOS COMPUESTOS DE ORIGEN MARINO

Los productos naturales poseen una gran diversidad estructural. La especificidad de sus efectos permite que sean empleados como reactivos biológicos para investigaciones biomédicas, como agentes terapéuticos o como modelos o arquetipos estructurales para la generación de familias de fármacos con mayor potencia o especificidad. Como un ejemplo clásico pudiéramos citar la morfina que, después de aislada y caracterizada, generó toda una familia de analgésicos con actividad sobre los receptores opiáceos a nivel central y que condujo, en última instancia, al descubrimiento de las morfina endógenas o endorfinas. A su vez, este compuesto de origen natural sirvió para la caracterización de los receptores opiáceos al emplearse como reactivos biológicos en investigaciones farmacológicas, y al conocimiento más profundo de los mecanismo del dolor y la analgesia.

El ambiente marino, en particular, ha propiciado que los organismos que lo habitan estén dotados de mecanismos complejos que les permiten sobrevivir en ese medio. Las toxinas forman parte de estos mecanismos. La diversidad de las biotoxinas y su alta especificidad resultan de un complejo proceso de evolución molecular y de interacciones funcionales que se han dado en la naturaleza a lo largo de millones de años.

El estudio de las toxinas de origen marino se inició en los años sesenta, con el hallazgo de dos compuestos: tetrodotoxina (extraída de los peces globo y la saxitoxina (extraída de dinoflagelados), los cuales, por la especificidad de sus efectos así como por la potencia de sus acciones, han permitido profundizar en la caracterización estructural y funcional de los canales de sodio. (CATTERALL, 2000).

En una revisión acerca de los proyectos que contemplan la utilización de derivados de organismos marinos con fines terapéuticos (base de datos PHARMAPROJECT, 2000), se encontró que un elevado porcentaje de los proyectos en curso abordan el estudio de fármacos con acciones sobre el sistema nervioso este porcentaje sólo es superado por las investigaciones sobre compuestos anticancerígenos y antiinfecciosos. Los productos neurológicos en desarrollo son en su mayoría de tipo analgésico, sin embargo también están en proyecto medicamentos para uso en el tratamiento de epilepsias, depresión y como estimulantes de la memoria, tal y como se representa en la figura 1.



Figura 1.
Categorías neurológicas estudiadas
Figure 1.
Neurological cathegories in study

A partir del veneno de diversas especies de conos se han aislado péptidos que hacen "blanco" en varios receptores neuromusculares de la presa. Estos componentes han sido denominados "conotoxinas" y están agrupados en 3 clases: alfa-conotoxinas, que tienen como sitio blanco los receptores colinérgicos; mu-conotoxinas, que tienen como blanco los canales de sodio del músculo esquelético, y omega-conotoxinas, que se unen a los canales de calcio neuronales (OLIVERA, RIVIER, CLARK, RAMILO, CORPUZ, ABOGADIE, MENA, WOODWARD, HILLYARD & CRUZ, 1990). Otras conotoxinas han sido aisladas posteriormente y se combinan con éstos u otros receptores. Una característica importante de estos compuestos es su capacidad de combinarse con un subtipo específico de receptor. En particular, se ha encontrado que las omega-conotoxinas son bloqueadores potentes y específicos de los canales de calcio tipo N. Este tipo de canales participan en muchos desórdenes neurológicos potencialmente tratables con inhibidores de la transmisión sináptica. Por síntesis, a partir de las conotoxinas se obtuvo un péptido denominado SNX-111 (Patente No. 5364842) que en la actualidad se encuentra en la fase de ensayos clínicos. Este compuesto sería potencialmente útil en la isquemia cerebral y como analgésico a usarse en el dolor crónico intenso en pacientes con cáncer y SIDA y está próximo de lanzarse al mercado. Otros compuestos obtenidos de esta fuente se encuentran en etapa de ensayos preclínicos por sus efectos como antiepilépticos, neuroprotectores y cardioestimulantes (Base de datos PHARMAPROJECT, 2000).

El phylum de los Cnidarios comprende un amplio grupo de animales integrado por medusas, anémonas, hidroides y corales. Las anémonas han sido fuente de compuestos capaces de ejercer acciones fisiológicas muy específicas sobre los canales iónicos y han contribuido a la caracterización de los mecanismos moleculares de funcionamiento de los canales de sodio en tejido muscular y nervioso (CATTERALL, 2000; EL-SHERIF, FOZZARD & HANCK, 1992; RATHMAYER, 1979). Recientemente se encontró una nueva clase de toxinas bloqueadoras de canales de potasio a partir de diferentes especies de anémonas tales como *Bunodosoma granulifera* (ANEIROS, GARCIA, MARTINEZ, HARVEY, YERSON, MARSHALL, ENGSTRÖM, HELLMAN & KARLSSON, 1993; GARATEIX, VEGA, SALCEDA, CEBADA, ANEIROS & SOTO, 2000), *Stichodactyla helianthus* (CASTAÑEDA, SOTOLONGO, AMOR, STOCKLIN, YERSON, HARVEY, ENGSTROM, WERNSTEDT & KARLSSON, 1995), *Anemonia sulcata* (SCHWEITZ, BRUHN, GUILLEMARE, MOINIER, LANCELIN, BÉRESS, & LAZDUNSKI, 1995) y *Heteractis magnifica* (GENDEH, YUNG, DE MEDEIROS, JEYASEELAN, HARVEY, & CHUNG, 1997). Estas toxinas no presentan homología con otras toxinas de canales de potasio. Se ha demostrado que algunas de estas toxinas de anémonas bloquean los canales tipo Kv expresados en oocitos de *Xenopus* o células de mamíferos (ALESSYRI-HABER, LECOQ, GASPARI, GRANGIER-MACMATH, JACQUET, HARVEY, DE MEDEIROS, ROWAN, GOLA, MÉNEZ, & CREST, 1999; KALMAN, PENNINGTON, LANIGAN, NGUYEN, RAUER, MAHNIR, PASCHETTO, KEM, GRISSMER, GUTMAN, CHRISTIAN, CAHALAN, NORTON, & CHYY, 1998; PENNINGTON, MAHNIR, KRAFTE, ZAYDENBERG, BYRNES, KHAYTIN, CROWLEY & KEM, 1996) y algunos canales de potasio dependientes de calcio K(Ca). Los canales K(Ca) y los Kv1.3 se expresan en los linfocitos T humanos, por lo que la inhibición de estos canales puede ser de utilidad terapéutica para suprimir la proliferación de los linfocitos. Además, los canales de K(Ca) están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso, cardiovascular y gastroin-

testinal, por lo que los estudios dirigidos a analizar las interacciones de las toxinas de anémonas con estos canales pueden proporcionar información importante, desde el punto de vista terapéutico, acerca de la modulación selectiva de estas corrientes iónicas (KEM, PENNINGTON & NORTON 1999).

Además de la posible aplicación terapéutica de estos nuevos compuestos, ellos pueden constituir modelos para el estudio de diversas patologías, como es el caso de las toxinas de anémonas con acción sobre canales de sodio que se unen al sitio 3 de este canal. Estas sustancias, obtenidas de diferentes especies de escorpiones y anémonas, interfieren con el proceso de inactivación de la corriente de sodio sin modificar su cinética de activación. Sus efectos son análogos a los que se presentan en algunas canalopatías como la miotonía, la parálisis periódica en el músculo esquelético y el síndrome de QT largo en el corazón (BENZINGER, TONKOVICH & HANCK, 1999).

A partir de diversos géneros de cianobacterias (los microorganismos conocidos como algas verdeazules), se han aislado compuestos como la anatoxina-a y la antoxina-a(s), que tienen efectos neurotóxicos (CARMICHAEL, 1994). La anatoxina-a, es un alcaloide que mimetiza la acción de la acetilcolina; se combina con los receptores de las células musculares induciendo la contracción, pero no puede ser degradada por la acetilcolinesterasa; consecuentemente, continúa actuando sobre las células musculares hasta que éstas quedan exhaustas y dejan de operar. Su capacidad de mimetizar la acción de la acetilcolina le confiere un gran interés como herramienta farmacológica. Se encuentra en estudio la posibilidad de obtener una versión modificada de este compuesto, con la toxicidad reducida, que pueda retardar la degeneración mental observada en la enfermedad de Alzheimer. En muchos pacientes este deterioro proviene, en parte, de la destrucción de las neuronas que producen acetilcolina. La acetilcolina no puede ser administrada a los pacientes con Alzheimer, puesto que desaparece muy rápidamente, por lo que la utilización de la anatoxina-a podría ser de utilidad en la terapia de esta patología y de otras asociadas a un déficit colinérgico, como la *miastenia gravis*.

Los ejemplos aquí mencionados indican la importante contribución que pueden ofrecer los compuestos de origen marino al estudio de los procesos biológicos y fisiopatológicos y, eventualmente, también al tratamiento médico de diversos padecimientos.

BIBLIOGRAFIA

- ANEIROS, A., GARCIA, I., MARTINEZ, J.R., HARVEY, A.L., YERSON, A.J., MARSHALL, D.L., ENGSTRÖM, Å., HELLMAN, U. & KARLSSON, E. 1993. A potassium channel toxin from the secretion of the sea anemone *Bunodosoma granulifera*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1157: 86-92.
- ALESSANDRI-HABER, N., LECOQ, A., GASPARINI, S., GRANGIER-MACMATH, G., JACQUET, G., HARVEY, A.L., DE MEDEIROS, C., ROWAN, E.G., GOLA, M., MENEZ, A. & CREST, M. 1999. Mapping the functional anatomy of BgK on Kv1.1, Kv1.2 y Kv1.3. Clues to design analogs with enhanced selectivity. *Journal of Biological Chemistry* 274: 35653-35661.
- Base de datos PHARMAPROJECT 2001.
- BENZINGER, R., TONKOVICH, G. S. & HANCK, D. A. 1999. Augmentation of recovery from inactivation by site-3 Na channel toxins. A single channel and whole cell study of persistent currents. *Journal of General Physiology*. 113: 333-346.
- CARMICHAEL, W. W. 1994. The toxins of Cyanobacteria. *Scientific American*, January: 64-72.
- CASTAÑEDA, O., SOTOLONGO, V., AMOR, A. M., STOCKLIN, R., YERSON, A., HARVEY, A., ENGSTROM, W. & KARLSSON, E. 1995. Characterization of a potassium channel toxin from the Caribbean sea anemone *Stychoactyla helianthus*. *Toxicon*, 33: 603-613.

- CATTERALL, W. A. 2000. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26: 13-25.
- CHANDY, G. 1998. ShK-Dap²² a potent Kv1.3 specific immunosuppressive polypeptide. *Journal of Biological Chemistry*, 273: 32697-32707.
- EL-SHERIF, N., FOZZARD, H. A. & HANCK, D. A. 1992. Dose-dependent modulation of the cardiac sodium channel by sea anemone toxin ATX II. *Circulation Research*, 70: 285-301.
- ETCHEBERRIGARAY, E., GIBSON, G.E. & ALKON, D. L. 1994. Molecular mechanisms of memory and the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Annals New York Academy of Sciences*, 747: 245-55.
- GARATEIX, A., VEGA, R., SALCEDA, E., CEBADA, J., ANEIRO, A. & SOTO, E. 2000. BgK anemone toxin inhibits outward K currents in snail neurons. *Brain Research*, 864: 312-314.
- GENDEH, G. S., YOUNG, L. C., DE MEDEIROS C. L. C., JEYASEELAN, K., HARVEY, A. L. & CHUNG, M.C.M. 1997. A new potassium channel toxin from the sea anemone *Heteractis magnifica*: Isolation, cDNA cloning and functional expression. *Biochemistry*, 36: 11461-11471.
- KALMAN, K., PENNINGTON, M. W., LANIGAN, M. D., NGUYEN, A., RAUER, H., MAHNIR, V., PASCHETTO, K., KEM, W., GRISMER, S., GUTMAN, G. A., CHRISTIAN, E. P., CAHALAN, M. D., NORTON, R. S. & CHYI, G. 1998. ShK-Dap²², a potent Kv1.3-specific immunosuppressive polypeptide. *Journal of Biological Chemistry*, 273: 32697-32707.
- KULLMANN, D.M. 2002. The neuronal channelopathies. *Brain*, 125: 1177-1195.
- KEM, W.R., PENNINGTON M.W. & NORTON R. S. 1999. Sea anemone toxins as templates for the design of immunosuppressant drugs. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, 15/16: 111-129.
- LEHMANN-HORN, F. & JURKAT-ROTT, K. 1999. Voltage-gated ion channels y hereditary disease. *Physiological Reviews*, 79: 1317-1372.
- LEHMANN-HORN, F., JURKAT-ROTT, K. & RUDEL, R. 2002. Periodic paralysis: underlying channelopathies. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 2: 61-69.
- LIPTON S. A. 1996. Similarity of neuronal cell injury and death in AIDS dementia y focal cerebral ischemia: potential treatment with NMDA open-channel blockers y nitric oxide-related species. *Brain Pathology*, 6: 507-517.
- MARBAN, E. 2002. Cardiac channelopathies. *Nature*, 415: 213-218.
- MOORE, J. W., NARAHASHI, T. 1967. Tetrodotoxin's highly selective blockage of an ionic channel. *Federation Proceedings*, 26: 1655-1663.
- NEWHOUSE P. A. 1997. Nicotinic system involvement in Alzheimer's y Parkinson's diseases. Implications for therapeutics. *Drugs and Aging*, 11: 206-228.
- OLIVERA, B. M., RIVIER, J., CLARK, C., RAMILO, C. A., CORPUZ, G. P., ABOGADIE, F. C., MENA, E. E., WOODWARD, S. R., HILLYARD, D. R. & CRUZ, L. J. 1990. Diversity of Conus neuropeptides. *Science* 249: 257-263.
- Patente 5364862- Neurex Corporation. Method of producing analgesia- (Por administración de los omega-copéptidos SNX-185 y SNX-111).
- PENNINGTON, M.W., MAHNIR, V. M., KRAFTE, D. S., ZAYDENBERG, I., BYRNES, M. E., KHAYTIN, I., CROWLEY, K. & KEM, W. 1996. Identification of three separate binding sites on SHK toxin, a potent inhibitor of voltage dependent potassium channels in human T-lymphocytes and rat brain. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 219: 696-701.
- PIETROBON, D. 2002. Calcium channels and channelopathies of the central nervous system. *Molecular Neurobiology*, 25: 31-50.
- RAGSDALE, D. S., MCPHEE, J. C., SCHEUER, T. & CATTERALL, W. A. 1996. Common molecular determinants of local anesthetic, antiarrhythmic and anticonvulsant block of voltage-gated Na channels. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 93: 9270-9275.
- RATHMAYER, W. 1979. Sea anemone toxins: tools in the study of excitable membranes. *Advances in Cytopharmacology*, 3: 335-44.
- ROGWASKY, M. A. 2000. KCNQ2/KCNQ3 K+ channels and the molecular pathogenesis of epilepsy: implications for therapy. *Trends in Neuroscience*, 23: 393-398.
- RUGGIERI, V. L. Y ARBERAS, C. L. 2002. Neuromuscular hereditary channelopathies. *Revista de Neurología*, 34: 150-156.
- SCHWEITZ, H., BRUHN, T., GUILLEMARE, E., MOINIER, D., LANCELIN, J-M, BERES, L. & LAZDUNSKI, M. 1995. Kalicludines and kaliseptine. *Journal of Biological Chemistry*, 270: 25121-25126.
- TAMMINGA, C. A. 1998. Schizophrenia and glutamatergic transmission. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12: 21-36.
- TAYLOR, C. P. & NARASHIMHAN, L. S. 1997. Sodium channels and therapy of central nervous system diseases. *Advances in Pharmacology*, 39: 47-98.
- THARP, B. R. 2002. Neonatal seizures and syndromes. *Epilepsia*, 43 (Suppl. 3): 2-10.
- TSAI, G. 1995. The glutamatergic basis of human alcoholism. *American Journal of Psychiatry*, 152: 332-340.
- TRUJILLO, K. A. 1995. Excitatory amino acids and drugs of abuse: a role for N-methyl D-aspartic receptors in drug tolerance sensitization y physical dependence. *Drug y Alcohol Dependence*, 38: 139-154.